

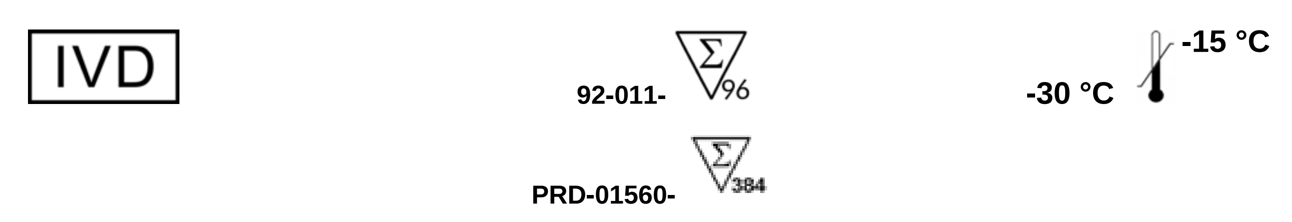
Cervista® HPV HR

REF 92-011, PRD-01560

USO

La prueba Cervista® HPV HR tiene dos finalidades:

1) Junto con la citología cervical en mujeres de a partir de los 30 años para guiar el tratamiento de la paciente.
2) Para clasificar pacientes con resultados de la prueba de Papanicolaou con células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US, por sus siglas en inglés) para determinar la necesidad de realizar una colposcopia.





No almacenar en un congelador sin escarcha.

Protéjala de la luz.

SÓLO PARA LA EXPORTACIÓN. PROHIBIDA SU VENTA EN LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA O CANADÁ.

ÍNDICE

ABREVIATURAS UTILIZADAS

ASC-US:	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
CIN:	Neoplasia intraepitelial cervicouterina
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
FAM:	Fluoróforo carboxifluoresceína
FRET:	Transferencia de energía por resonancia de fluorescencia
FOZ:	Veces por encima de cero (del inglés “Fold over zero”, señal de control o de la muestra dividida por la señal de control negativo)
ADN genómico:	ADN genómico
HIST2H2BE:	Gen de la histona humana 2, gen H2be
HPV:	Virus del papiloma humano
HR:	Alto riesgo
Máx:	Máximo
Mín:	Mínimo
MTA:	Automatización de rendimiento de medio
NTC:	Control sin molde o control negativo
Oligo:	Oligonucleótido
Pap:	Prueba de citología cervical Papanicolaou
Red:	Fluoróforo rojo Redmond
RFU:	Unidad de fluorescencia relativa

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Cada año se presentan aproximadamente 11.000 nuevos casos de cáncer de cuello uterino invasivo en EE.UU. y se atribuyen más de 3500 muertes a este tipo de cáncer.[1] En la etapa más temprana del cáncer de cuello uterino, la tasa de supervivencia en 5 años es del 92%, y en todas las etapas del cáncer de cuello uterino, la tasa de supervivencia en 5 años es de aproximadamente el 72%.[1] El cáncer de cuello uterino está provocado por una infección persistente con el virus del papiloma humano (HPV).[2] Se ha demostrado que se puede prevenir el cáncer de cuello uterino con programas citológicos y de diagnóstico precoz del HPV para facilitar la detección y el tratamiento de las lesiones precancerosas.

Se han documentado más de 100 tipos de HPV en la bibliografía, aproximadamente 40 de los cuales infectan el área anogenital y se transmiten por vía sexual. De los tipos de HPV que se transmiten por vía sexual, hasta ahora se conocen 14 genotipos oncogénicos (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68), tipos de alto riesgo (HR), como la causa de casi todos los cánceres de cuello uterino.[1,2] La detección del ADN del HPV de alto riesgo junto con un resultado de citología ambiguo (ASC-US) sitúa a una mujer en un riesgo mayor de presentar una neoplasia intraepitelial cervicouterina subyacente 2 o 3 (CIN 2 o CIN 3).[4,6,7] Mientras que el CIN 3, sólo aparece en aproximadamente un 5% de los casos de ASC-US,[5] es un precursor inmediato del cáncer de cuello uterino y por consiguiente su detección es muy importante para el tratamiento de la paciente.[2] Por lo tanto, la identificación de mujeres con una citología ASC-US junto con una infección por HPV de alto riesgo es una ayuda útil para que los médicos decidan a quién se debe monitorizar o tratar de forma más agresiva.[2,4,8,9]

En 2002, varios grupos de profesionales sanitarios de EE.UU., publicaron las directrices para el tratamiento de las pacientes, y recomendaron métodos de diagnóstico precoz del cáncer de cuello uterino según la edad, la presencia de anomalías citológicas en una muestra de la prueba de Papanicolaou, y otros factores.[6,10,11] Estas directrices de tratamiento de las pacientes, recomendaban analizar la presencia de tipos de HPV de alto riesgo como una herramienta de diagnóstico precoz habitual, junto con la citología, en casos concretos. Las recomendaciones principales de las directrices de práctica profesional más recientes, *Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests de 2006*, incluyen: 1) el diagnóstico precoz de mujeres de más de 30 años y en combinación con otros métodos de diagnóstico precoz, y 2) tratamiento de mujeres de más de 20 años con ASC-US.[3,11] En todos los casos, las decisiones de tratamiento de la paciente reflejan la historia citológica total de la paciente y otros factores de riesgo además de la presencia o ausencia de tipos de HPV de alto riesgo.[6,8,11]

PRINCIPIOS DEL PROTOCOLO

La Cervista® HPV HR es una prueba de diagnóstico cualitativo *in vitro* para la detección de ADN de los 14 tipos de HPV de alto riesgo, a saber, los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.

La prueba Cervista® HPV HR utiliza la química Invader®, un método de amplificación de señal para la detección de secuencias de ácido nucleico específicas. El método usa dos reacciones isotérmicas: una reacción primaria que se realiza en la secuencia de ADN diana y una reacción secundaria que produce una señal fluorescente (véase la figura 1). En la reacción primaria, dos tipos de oligonucleótidos específicos de la secuencia (es decir, una sonda oligonucleotídica y un oligonucleótido Invader®) se unen a la secuencia diana de ADN. Cuando estos oligonucleótidos se superponen por, al menos, un par de bases en la secuencia diana, se forma una estructura invasiva que actúa como un sustrato para la enzima Cleavase®. La enzima corta el extremo 5' (cola) de la sonda en la posición de la superposición.

Las sondas están presentes en un gran exceso molar y entran y salen rápidamente del ciclo de la secuencia diana para que se generen muchas colas cortadas en el extremo 5' por cada secuencia diana. Las colas cortadas se unen después a un oligonucleótido FRET (del inglés “Fluorescence Resonance Energy Transfer”, que significa transferencia de energía por resonancia de fluorescencia) en horquilla universal creando otra estructura invasiva que la enzima Cleavase® reconoce como un sustrato. La enzima corta los oligonucleótidos FRET entre el fluoróforo y la molécula extintora y produce una señal de fluorescencia mientras las colas cortadas entran y salen del ciclo. Para cada copia de diana, las reacciones primarias y secundarias combinadas provocan una amplificación de señal de 10^6–10^7 veces por hora.[12] Las secuencias de las colas y los oligonucleótidos FRET son universales ya que no son complementarios a la secuencia diana.

Los reactivos para este ensayo son tres mezclas de oligonucleótidos, que detectan los 14 tipos de HPV agrupados según una relación filogénica, es decir, tipos víricos con secuencias de ADN semejantes. Los oligonucleótidos que se unen al gen histona humano 2 (H2be, HIST2H2BE) también están presentes en estas tres mezclas de oligonucleótidos. El HIST2H2BE funciona como un control interno que produce una señal semicuantitativa del ADN genómico presente en la muestra. El formato de la prueba Cervista® HPV HR permite una detección simultánea de secuencias de ADN del HPV y HIST2H2BE en un único pocillo utilizando dos secuencias de colas de 5' diferentes en las sondas así como también dos oligonucleótidos FRET diferentes, cada uno con un fluoróforo espectralmente distinto (FAM y Red). A propósito, las colas de 5' se unen sólo a sus oligonucleótidos FRET respectivos para generar una señal diana específica (véase figura 1).

Un resultado positivo indica que al menos uno de los 14 tipos de alto riesgo está presente en la muestra de ADN. Este resultado se representa mediante una señal fluorescente FAM por encima del valor discriminatorio derivado empíricamente. Para cada reacción, un resultado negativo se representa mediante una señal fluorescente FAM por debajo del valor discriminatorio derivado empíricamente. Para determinar la cantidad relativa de ADN de muestra en cada reacción, se mide el HIST2H2BE humano mediante una señal fluorescente Red por encima del valor discriminatorio derivado empíricamente en cada reacción. La medida de esta diana funciona como un mecanismo de control de calidad para confirmar que un resultado negativo no se debe a una muestra insuficiente.

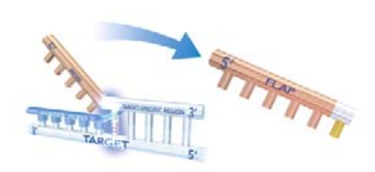
1a. Los oligos HPV forman una estructura invasiva sobre el ADN del HPV.



1b. Los oligos HIST2H2BE forman una estructura invasiva sobre el ADN genómico.



2. El enzima Cleavase® reconoce la estructura y corta los oligos de la sonda.





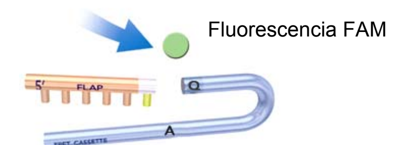
3a. Las colas de los oligos de la sonda HPV forman estructuras invasivas sobre los oligos FAM FRET.



3b. Las colas de los oligos de la sonda HIST2H2BE forman estructuras invasivas sobre los oligos Red FRET.



4. La enzima Cleavase® reconoce la estructura y libera los fluoróforos de los oligos FRET, originando la señal fluorescente.



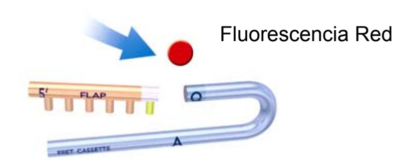


Figura 1: representación gráfica de la química Invader® en Cervista® HPV HR

REACTIVOS PROPORCIONADOS

Tabla 1: contenido de Cervista® HPV HR

Reactivo	**Abreviatura en la etiqueta del vial**	**Cantidad en el vial y volumen de reactivo (REF 92-011)**	**Cantidad en el vial y volumen de reactivo (REF PRD-01560)**	**Descripción del componente**
HPV Oligo Mix 1	O1 (tapa y raya azules)	1 x 1400 μl	8 x 1400 μl	Oligonucleótidos con afinidad por los tipos HPV 51, 56 y 66, suspendido en agua y tampón MOPS (pH 7,5)
HPV Oligo Mix 2	O2 (tapa y raya amarillas)	1 x 1400 μl	8 x 1400 μl	Oligonucleótidos con afinidad por los tipos HPV 18, 39, 45, 59 y 68, suspendido en agua y tampón MOPS (pH 7,5)
HPV Oligo Mix 3	O3 (tapa y raya de color naranja)	1 x 1400 μl	8 x 1400 μl	Oligonucleótidos con afinidad por los tipos HPV 16, 31, 33, 35, 52 y 58, suspendido en agua y tampón MOPS (pH 7,5)
Cleavase® Enzyme Solution	E (tapa y raya moradas)	1 x 1100 μl	8 x 970 μl	Cleavase® Enzyme suspendida en 140 mM $MgCl_2$, trometamol 10 mM (pH 8,0), 25 mM KCl, 0,25% Tween 20, 0,25% Nonidet P40, 25% Glicerol y 0,05 mg/ml BSA.
HPV Control 1	C1 (tapa transparente y raya negra)	1 x 350 μl	8 x 350 μl	1000 copias/μl ADN tipo 51 HPV clonado y 3000 copias/μl ADN HIST2H2BE clonado en tRNA de levadura y tampón de ácido edético 0,1 mM, trometamol 10 mM
HPV Control 2	C2 (tapa transparente y raya negra)	1 x 350 μl	8 x 350 μl	1000 copias/μl ADN tipo 18 HPV clonado y 3000 copias/μl ADN HIST2H2BE clonado en tRNA de levadura y tampón de ácido edético 0,1 mM, trometamol 10 mM
HPV Control 3	C3 (tapa transparente y raya negra)	1 x 350 μl	8 x 350 μl	1000 copias/μl ADN tipo 16 HPV clonado y 3000 copias/μl ADN HIST2H2BE clonado en tRNA de levadura y tampón de ácido edético 0,1 mM, trometamol 10 mM
Control sin molde o control negativo	NTC (tapa transparente y raya negra)	1 x 350 μl	8 x 350 μl	tRNA de levadura y tampón de ácido edético 0,1 mM, trometamol 10 mM

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso de diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben tomar precauciones de seguridad universales cuando se manipulan tejidos y fluidos humanos. Las muestras deben eliminarse según las normas locales.
3. No mezcle los reactivos de diferentes lotes o de diferentes viales del mismo lote.
4. No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad.
5. Los componentes de los productos (residuos de los productos, envases) pueden considerarse desechos de laboratorio. Elimine los reactivos no utilizados y los desechos, según las normas locales, estatales y federales correspondientes.

NORMAS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

- Almacene todos los reactivos entre -30 °C y -15 °C.
- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad que aparece en el exterior del envase.
- No los almacene en un congelador sin escarcha.
- Protéjalos de la luz.
- Antes de su uso, retire los reactivos del congelador y déjelos descongelar al menos 30 minutos a temperatura ambiente o hasta que una inspección visual indique que no hay material congelado.
- Agite antes de su uso.
- Hologic, Inc. recomienda no más de seis (6) ciclos de congelado/descongelado para todos los reactivos de la prueba Cervista® HPV HR.
- Prepare las mezclas de reacción antes de cada uso. La mezcla de reacción preparada debe usarse antes de 30 minutos.

REACTIVOS Y MATERIALES ADICIONALES

El software Invader Call Reporter® es un componente necesario para este producto de diagnóstico *in vitro* (IVD). Este software se proporciona una vez con el pedido inicial del Cervista® HPV HR y, después, cuando haya nuevas actualizaciones del software. Póngase en contacto con su representante si necesita copias adicionales.

El Genfind® DNA Extraction Kit (kit de extracción de ADN Genfind®) es un accesorio de la prueba Cervista® HPV HR. Póngase en contacto con su representante local para pedir el Genfind® DNA Extraction Kit (REF 95-449)

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Suministros consumibles

- Puntas de pipeta con filtro y sin nucleasas
- Placas de polipropileno de 96 pocillos
- Selladores de placas transparentes
- Aceite mineral, calidad de biología molecular
- Tubos de 2,0 ml con tapas roscadas de polipropileno estériles

Equipo

- Sistema Cervista® MTA para usuarios de automatización
- Pipetas
- Agitadora vorticial
- Lector de placas para fluorescencia Tecan® Infinite™ F200, Tecan® GENios™ o BioTek® FLx800™
- Ordenador de escritorio con sistema operativo Microsoft® Windows® XP, Microsoft® Excel y Adobe® Reader®
- Termociclador o estufa capaz de mantener las temperaturas de reacción apropiadas

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS, EXTRACCIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL ADN PARA ANÁLISIS

Entre las muestras cervicales que pueden analizarse con la prueba Cervista® HPV HR están las siguientes

- Muestras recogidas en PreservCyt® Solution, el sistema de conservación de pruebas de Papanicolau ThinPrep®, con un dispositivo de recogida autorizado.
- Muestras recogidas en SurePath™ Preservative Fluid con un dispositivo de recogida autorizado.

Las muestras cervicales en PreservCyt® Solution pueden almacenarse a temperatura ambiente (20–30 °C) durante un máximo de 24 semanas antes de la realización de la prueba.

Las muestras cervicales en SurePath™ Preservative Fluid pueden almacenarse a temperatura ambiente (20–30 °C) durante un máximo de 6 semanas antes de la realización de la prueba.

El kit Genfind® DNA Extraction Kit (REF 95-449) ha sido validado para su uso con la prueba Cervista® HPV HR.

El procedimiento recomendado para la extracción de ADN de muestras cervicales en PreservCyt® Solution o SurePath™ Preservative Fluid está incluido en las instrucciones de uso del kit Genfind® DNA Extraction Kit.

Los laboratorios que realicen una prueba Cervista® HPV HR con algún método de extracción que no sea el Genfind® DNA Extraction Kit validado son los responsables de la validación de dicho método.

Las muestras de ADN se pueden guardar de 2 a 8 °C hasta cuatro semanas. Para un almacenamiento más prolongado, coloque las muestras en un congelador a una temperatura de entre -30 °C y -15 °C.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA PARA EL SISTEMA CERVISTA® MTA

Consulte el Manual del usuario de Cervista® MTA (referencia: MAN-02378-002) para obtener más información acerca del uso del sistema automatizado para realizar la prueba Cervista® HPV HR.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA MANUAL PARA CERVISTA® HPV HR

Procedimiento de reacción

1. Agregue 10 μl de cada ADN de muestra y de control a tres pocillos de una placa de 96 pocillos según se indica en la cuadrícula de colocación de muestras (véase la figura 2).

	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3	Mezcla 1	Mezcla 2	Mezcla 3
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
A	C1	C1	C1	S5	S5	S5	S13	S13	S13	S21	S21	S21
B	C2	C2	C2	S6	S6	S6	S14	S14	S14	S22	S22	S22
C	C3	C3	C3	S7	S7	S7	S15	S15	S15	S23	S23	S23
D	NTC	NTC	NTC	S8	S8	S8	S16	S16	S16	S24	S24	S24
E	S1	S1	S1	S9	S9	S9	S17	S17	S17	S25	S25	S25
F	S2	S2	S2	S10	S10	S10	S18	S18	S18	S26	S26	S26
G	S3	S3	S3	S11	S11	S11	S19	S19	S19	S27	S27	S27
H	S4	S4	S4	S12	S12	S12	S20	S20	S20	S28	S28	S28

Figura 2: colocación de muestras en la prueba Cervista® HPV HR

2. Cubra cada pocillo con 20 μl de aceite mineral y cinta de sellado de placas para minimizar la evaporación.
3. Incube las muestras a 95 °C durante 5 minutos en un termociclador.
4. Mezcle bien los reactivos y las mezclas de reacción antes de su uso.
5. Prepare las mezclas de reacción según se indica en la hoja de Preparación de mezcla (impresa desde el software del Invader Call Reporter®) o según los cálculos de la tabla 2. Prepare una mezcla de reacción para cada una de las tres HPV Oligo Mix.

Tabla 2. Instrucciones para la preparación de la mezcla de reacción

Componente	µl/pocillo	Número de reacciones (muestras y controles [*k*])	25% media	Volumen total
HPV Oligo Mix 1, 2 o 3	8 µl	*k*	1,25	= 8*k*(1,25)
Cleavase® Enzyme Solution	2 µl	*k*	1,25	= 2*k*(1,25)
Volumen de la mezcla total	**10 µl**	***k***	**1,25**	**= 10*k*(1,25) µl**

6. Reduzca la temperatura del termociclador a 63 °C.
7. Agregue 10 µl de la mezcla de reacción apropiada a los pocillos con control o con muestra (véase la figura 2), procurando pipetear por debajo del aceite mineral.
8. Incube la placa a 63 °C durante 4 horas.

Recogida de datos

1. Tenga siempre la placa a temperatura ambiente antes de la lectura. Si la placa no se puede leer inmediatamente, guárdela de 2 a 8 °C (se recomienda leer la placa antes de 24 horas tras la finalización del ensayo).
2. Coloque la placa de 96 pocillos (el pocillo A1 debe quedar en la esquina superior izquierda) en el soporte de la placa del lector de placas de fluorescencia. Retire la cinta de sellado de placas.
3. Defina el tipo de placa para establecer las coordenadas y la altura de la sonda para ese tipo de placa en particular. Guarde las configuraciones.
4. Lea la placa entera. Se requieren dos exploraciones por separado: FAM (excitación = 485 nm, emisión = 530 nm) y Red (excitación = 560 nm, emisión = 612 nm). Para detectar la señal HPV, el instrumento debe estar configurado para detectar el fluoróforo FAM. Para detectar el ADN genómico de muestra, el instrumento debe estar configurado para detectar el fluoróforo Red.
5. Ajuste la ganancia del lector de la placa de fluorescencia para que esté en el rango dinámico lineal del lector según las instrucciones del fabricante. La ganancia debe configurarse para el control negativo (No Target Control, NTC) produzca valores que estén en el rango de fondo del lector, con una RFU mínimo de 600. Los valores NTC no tienen que ser idénticos para la lectura de los FAM y Red.

NOTAS Y PRECAUCIONES SOBRE EL PROCEDIMIENTO

1. Los laboratorios deben aplicar buenas prácticas de laboratorio y cumplir todos los requisitos exigidos por la legislación federal, estatal y local aplicable.
2. Mezcle bien las muestras, los reactivos y las mezclas de reacción.
3. Utilice puntas de pipeta con filtro para aerosoles, desechables y estériles sin nucleasas para cada adición y traslado, para evitar una contaminación cruzada.
4. Use tubos de polipropileno sin nucleasas y desechables para preparar las mezclas de reacción.
5. Compruebe que la placa de 96 pocillos sea compatible con el termociclador y el lector de placas de fluorescencia antes de iniciar la prueba.*
6. Utilice sólo equipos calibrados.

7. Los controles se deben agregar a las posiciones indicadas en la cuadrícula de colocación de muestras ubicada en la figura 2 para que el software Invader Call Reporter® funcione correctamente.
8. Utilice nuevo aceite mineral para cada configuración de reacción (no traslade estos reactivos a su recipiente original una vez que hayan sido agregados).
9. Consulte la hoja de colocación de muestras para asegurarse de que se agrega la mezcla correcta a cada columna.*
10. Coloque siempre la punta de la pipeta cerca de la parte inferior del pocillo para asegurarse de que la mezcla de reacción se agregue por debajo del aceite mineral. Mezcle rellenando y vaciando cuidadosamente la punta de la pipeta de 3 a 5 veces.*

*Las notas de procedimiento 5, 9 y 10 no se aplican al sistema Cervista® MTA.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Para cada una de las tres reacciones se genera un valor de la relación señal/ruido (señal de la muestra medida frente a la señal de un pocillo de reacción con un control negativo). El valor de la relación señal/ruido es conocido como FOZ (veces por encima de cero). Se genera un resultado final positivo, negativo o indeterminado para cualquier muestra particular según el análisis de los tres pocillos de reacción por separado.

La relación entre los valores de HPV FOZ generados por las tres mezclas de reacción determina si una muestra es o no positiva. La relación HPV FOZ se calcula dividiendo el valor HPV FOZ más alto de cualquiera de las tres mezclas de reacción entre el valor HPV FOZ más bajo de los tres. Cuando algún valor FOZ es menor de 1, el cálculo de la relación se redondea a 1. Si la relación HPV FOZ es mayor o igual a 1,525, entonces la muestra es positiva para HPV. Sin embargo, en un subconjunto de infecciones mixtas, todos los pocillos de reacción pueden generar una señal mucho mayor que la del ruido de fondo. En algunos casos, estas infecciones mixtas pueden generar señales positivas de intensidad similar en todos los pocillos de reacción, y por lo tanto la relación HPV FOZ será menor de 1,525. Para evitar la posibilidad de falsos negativos debido a una situación de tres positivos como la descrita anteriormente, se aplica un segundo cálculo del siguiente modo: cuando la relación FOZ es menor de 1,525, pero los tres valores FOZ individuales son mayores que o iguales a un segundo valor de corte de 1,93, la muestra es positiva para el HPV.

En tres diferentes situaciones se genera una llamada de indeterminación 1) cuando el % CV entre los valores ADN genómico FOZ es ≥ 25,0% (% CV alto), 2) cuando los tres valores HPV FOZ son < 0,7 (HPV FOZ bajo) y 3) cuando el valor medio de ADN genómico FOZ de una muestra negativa es < 1,5 (ADN genómico bajo).

En la figura 3 aparece un resumen de los criterios de llamada de las muestras antes descritos.

Terminología

HPV FOZ: para cada HPV Oligo Mix, la señal FAM de la muestra dividida por la señal FAM del control negativo (No Target Control).

Relación HPV FOZ: el valor mayor de HPV FOZ de las tres HPV Oligo Mix dividido por el valor menor de HPV FOZ de las tres HPV Oligo Mix (normalizado a 1,0 si FOZ es menor de 1,0).

ADN genómico FOZ medio: el valor medio determinado a partir de los tres valores de ADN genómico FOZ obtenidos a partir de cada una de las tres mezclas de reacción, calculado dividiendo la señal Red de la muestra entre la señal Red del control negativo (NTC).

%CV ADN genómico FOZ: coeficiente de variación porcentual para los valores de ADN genómico FOZ generados por las tres HPV Oligo Mix.

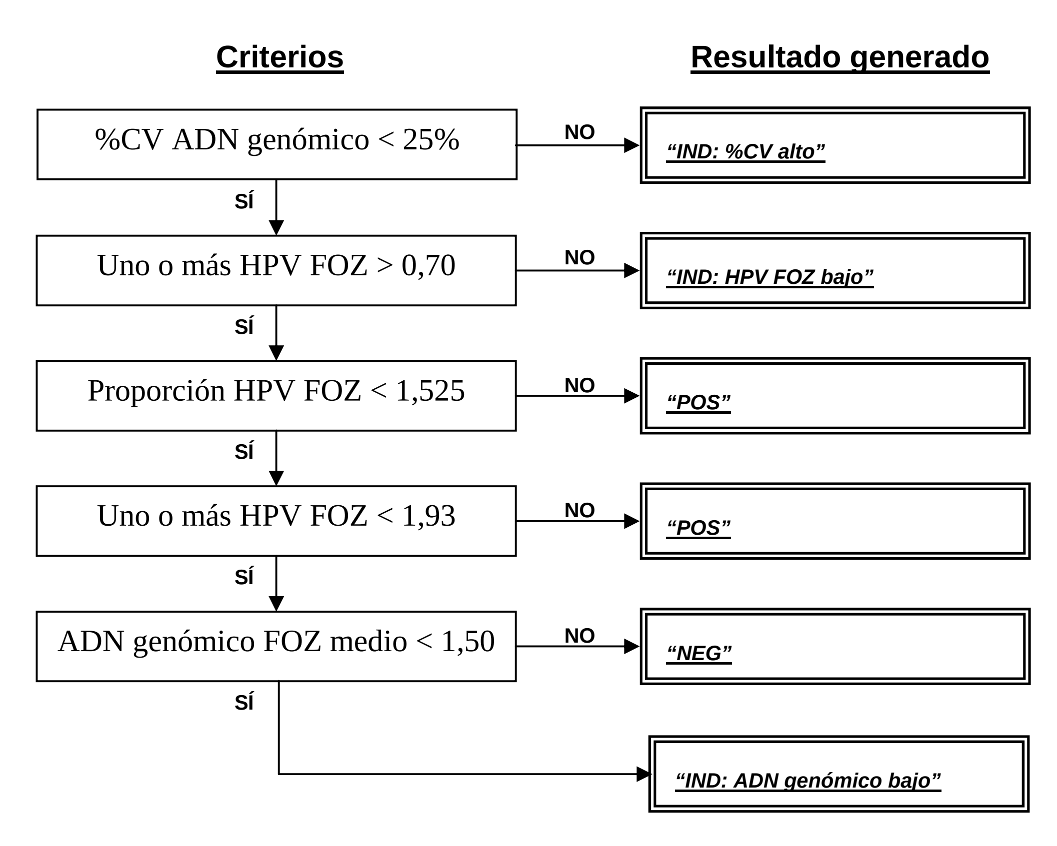


Figura 3: Criterios de denominación de las muestras ordenados de arriba a abajo

CONTROL DE CALIDAD

Control negativo

1. El control negativo (No Target Control) debe producir los resultados apropiados para que las muestras de esa placa sean válidas. Si no cumple esos criterios, las muestras y los controles de esa placa tampoco son válidos y deben repetirse (véase la tabla 3).
2. La señal mínima para cada una de las tres mezclas debe ser mayor o igual a 600 RFU (≥ 600).
3. El %CV de la señal HPV media de las tres mezclas debe ser menor del 25,0% (< 25,0%) o las muestras y controles de esa placa no son válidos y deben repetirse (véase la tabla 3).
4. El %CV de la señal de ADN genómico media de las tres mezclas debe ser menor de 25,0% (< 25,0%).

Tabla 3: criterios del control negativo (No Target Control)

Resultados	Señal HPV mín.	Señal de ADN genómico mín.	% CV máx. (HPV y ADN genómico)
Válido	600	600	24,9%

Controles HPV

1. Los controles del HPV (controles HPV 1–3) deben producir los resultados apropiados para que la prueba sea válida. Si los controles no cumplen esos criterios, las muestras de esa placa tampoco son válidas y deben repetirse (véase la tabla 4).
2. Una relación HPV FOZ se determina dividiendo el HPV FOZ más alto de las tres mezclas de reacción entre el HPV FOZ más bajo de las tres (normalizado a 1,0 si es menor de 1,0). El HPV Control 1 debe producir un valor HPV FOZ positivo (≥ 1,525) sólo para el HPV Oligo Mix 1, HPV Control 2 debe producir un valor HPV FOZ positivo (≥ 1,525) sólo para el HPV Oligo Mix 2 y el HPV Control 3 debe producir un valor HPV FOZ positivo (≥ 1,525) sólo para el HPV Oligo Mix 3.
3. El ADN genómico FOZ medio de las tres mezclas debe ser mayor o igual a 1,50 (≥ 1,50) o el control no es válido para un ADN genómico bajo.
4. El %CV del ADN genómico FOZ medio de las tres mezclas debe ser menor de 25,0% (< 25,0%).

Tabla 4: control HPV y criterios de muestras

Control	Resultados	Relación HPV FOZ	Mezcla FOX positiva	ADN genómico FOZ medio	% CV ADN genómico FOZ
HPV Control 1	Control válido	≥ 1,525	Mezcla 1 sólo	≥ 1,50	< 25,0%
HPV Control 2	Control válido	≥ 1,525	Mezcla 2 sólo	≥ 1,50	< 25,0%
HPV Control 3	Control válido	≥ 1,525	Mezcla 3 sólo	≥ 1,50	< 25,0%

Verificación de la prueba

1. Los resultados de las muestras son válidos cuando los controles negativos y positivos producen los resultados correctos. Si el control negativo (No Target Control) no es válido o si cualquier resultado para un control positivo no es válido, todos los resultados de las muestras de esa placa no son válidos y deben repetirse. Consulte las secciones de resolución de problemas en las Instrucciones de uso y en el Software User Manual for Invader Call Reporter®. Consulte la sección Resolución de problemas del Manual del usuario de Cervista® MTA (referencia MAN-02378-002) para el sistema Cervista® MTA.
2. Todos los requisitos de control de calidad deben realizarse según las normas locales, estatales y federales y según los requisitos de acreditación.

LIMITACIONES

1. La prueba Cervista® HPV HR detecta el ADN de los tipos de HPV de alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. Esta prueba no detecta ADN de los tipos de bajo riesgo de HPV (por ej., 6, 11, 42, 43, 44).
2. La prueba Cervista® HPV HR muestra la reactividad cruzada a dos tipos de HPV de riesgo desconocido. Se observó un resultado positivo de HPV con 5000 copias/reacción del tipo de HPV 67 y 50.000 copias/reacción del tipo de HPV 70.
3. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por HPV porque es posible que niveles muy bajos de infección o un error de muestreo provoquen un resultado negativo falso.
4. Esta prueba sólo ha sido validada para su uso en muestras cervicouterinas recogidas en la solución PreservCyt® o SurePath™ Preservative Fluid.

5. El funcionamiento de la prueba Cervista® HPV HR ha sido determinado usando ADN extraído con el Genfind® DNA Extraction Kit.
6. Se observó interferencia en las muestras cervicouterinas recogidas en solución PreservCyt® y contaminadas con altos niveles (2%) de jalea anticonceptiva o cremas antimicóticas cuando se aísla el ADN con el Genfind® DNA Extraction Kit. En estas condiciones, se pueden obtener resultados negativos falsos.
7. La interferencia se observó en las muestras cervicales recogidas en SurePath™ Preservative Fluid contaminado con jalea anticonceptiva y/o cremas fungicidas en concentraciones del 0,5% y el lubricante personal ASTROGLIDE® en concentraciones del 0,5% si el ADN ha sido aislado con el kit Genfind® DNA Extraction Kit. En estas condiciones, es posible que se produzcan falsos negativos. La interferencia potencial del lubricante personal ASTROGLIDE® no ha sido evaluada en muestras cervicales recogidas en PreservCyt® Solution.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Funcionamiento en ensayo clínico

Se realizó un estudio clínico multicéntrico, transversal y prospectivo para evaluar el funcionamiento de la prueba Cervista® HPV HR para la detección del papilomavirus humano y neoplasia intraepitelial cervicouterina de grado 2 o superior (CIN2+) en muestras citológicas líquidas. Las muestras citológicas ThinPrep® residuales se obtuvieron de 3540 mujeres que se habían sometido a un programa rutinario de diagnóstico precoz del cáncer de cuello uterino. Este estudio incluyó 2026 mujeres de más de 30 años y con resultados citológicos normales (WNL) y 1514 mujeres de más de 18 años con resultados ASC-US. Las muestras citológicas se obtuvieron de 89 laboratorios de todo Estados Unidos. El ADN se extrajo a partir de muestras ThinPrep® cervicouterinas residuales que quedaron después de terminar un programa de diagnóstico precoz de cáncer de cuello uterino. Después, el ADN se analizó usando la prueba Cervista® HPV HR.

El rendimiento analítico de la prueba se midió frente a resultados de PCR/secuenciación. Las muestras de ADN residuales tanto de los sujetos ASC-US como los WNL se usaron para una amplificación por PCR y secuenciación. Las muestras de ADN se amplificaron usando cebadores de consenso para el gen HPV L1. También se amplificó una parte del gen de la beta-globina humana como control interno. Los amplicones purificados se usaron como moldes en reacciones de secuenciación múltiples para 14 tipos de HPV de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. Los datos de secuenciación se analizaron utilizando varios programas de alineamiento de secuencias.

Una comparación de la prueba Cervista® HPV HR con el método de PCR/secuenciación tanto entre sujetos ASC-US como WNL resultó en una coincidencia total del 86,1% entre los dos métodos (IC 95% = 84,9–87,3%). La coincidencia porcentual positiva entre los dos métodos fue de 91,8 (89,7–93,6%) y la concidencia porcentual negativa fue de 84,2% (IC 95% = 82,7–85,7%).

Se midió el rendimiento clínico de la prueba Cervista® HPV HR frente a los resultados de una colposcopia y una histología. Las muestras de biopsia procedieron de mujeres con una citología ASC-US garantizadas por las directrices de cuidados estándar en cada laboratorio participante. Los resultados histológicos de consenso provistos por un panel de revisión central sirvieron de criterio de referencia para determinar la presencia o ausencia de enfermedad. En ausencia de datos histológicos, la falta de lesiones cervicouterinas colposcópicamente visibles y sin biopsia se identificaron con una ausencia de enfermedad.

Hubo 1347 sujetos ASC-US enfermos conocidos (histología central o colposcopia negativa) y resultados de Cervista® HPV HR. En las tablas 5 y 6 aparece una comparación de los resultados de Cervista® HPV HR con una colposcopia/histología central.

Tabla 5: resultados de Cervista® HPV HR y de colposcopia/histología consenso (CIN2+) entre mujeres con citología ASC-US

Cervista® HPV HR	Colposcopia/Histología		
	Positivo[b]	Negativo[c]	Total
Positivo	64	705	769
Negativo[a]	5	573	578
Total	69	1278	1347

[a] Incluye resultados indeterminados
[b] CIN2+ Histología
[c] Ni CIN ni CIN1 por histología central o colposcopia sin histología central

Tabla 6: Resultados de Cervista® HPV HR y de colposcopia/histología consenso (CIN3+) entre mujeres con citología ASC-US

Cervista® HPV HR	Colposcopia/Histología		
	Positivo[b]	Negativo[c]	Total
Positivo	22	705	727
Negativo[a]	0	573	573
Total	22	1278	1300

[a] Incluye resultados indeterminados
[b] CIN3+ incluido un adenocarcinoma *in situ*
[c] Ni CIN, CIN1 ni CIN2 por histología central o colposcopia sin histología central

Entre las mujeres con una citología ASC-US, la sensibilidad clínica de la prueba para CIN2+ fue del 92,8% (IC 95% = 83,9–97,6%) y el valor predictivo negativo fue del 99,1% (IC 95% = 98,0–99,7%). La sensibilidad clínica y los valores predictivos negativos de la prueba para CIN3 son ambos del 100% (IC 95% = 84,6–100% y 99,4–100%).

Hay varias variables clave que se sabe que influyen en las características de funcionamiento de cualquier prueba HPV en un estudio clínico. Estas incluyen, pero sin limitarse a ellas, técnicas de toma de muestras cervicouterinas, la calidad de los resultados citológicos, la edad de la población estudiada, la prevalencia de la enfermedad, los métodos de diagnóstico de la enfermedad y métodos de interpretación histológica. Dado el número de variables presentes durante las pruebas de HPV de rutina en los diferentes laboratorios, cabe destacar que muchos de los resultados obtenidos del ensayo clínico Hologic son similares a los vistos en las condiciones de ensayo controlado descritas en el estudio de selección ASC-US/LSIL Triage Study (ALTS).[7,4] En la tabla 7 aparece una comparación del diseño del estudio, la prevalencia de la enfermedad y las características de rendimiento clínico para el estudio Hologic y el ALTS. La diferencia en las tasas CIN2+ observadas entre los dos estudios pueden reflejar las diferencias entre las poblaciones, así como las diferencias de diagnóstico de la enfermedad.

Tabla 7: Comparación del ensayo clínico Hologic y ALTS[7,4]

Criterio	ALTS	Hologic
Número de centros participantes / Estados	4 / 4	89 / 22
Edad media de los sujetos	29	33
Sujetos con colposcopia completada	1149[a]	1347[b]
Sujetos sin lesión, sin biopsia realizada (%)	25%	28%
Sujetos sin lesión patológica en la biopsia (%)	49%	53%
Sujetos con CIN1 (%)	15%	14%
Sujetos con CIN2+ (%)	11%	5%
Tasa de detección para CIN2+	96%	93%
Tasa de detección para CIN3+	96%	100%
Valor predictivo negativo para CIN2+	98,9%	99,1%
Valor predictivo negativo para CIN3+	99,5%	100,0%
Tasa de referidos a colposcopia	57%	57%[c]
Concordancia con PCR	82,7%	86,1%

[a] Grupo de colposcopia inmediata de ALTS
[b] Número de sujetos con una enfermedad conocida y resultados de Cervista® HPV HR
[c] La tasa de referidos para mujeres de más de 30 años fue del 43%

Sensibilidad analítica

Se analizó el ADN plasmídico de HPV clonado, que representa los 14 tipos de HPV detectados por la prueba Cervista® HPV HR, para determinar la sensibilidad analítica individual de cada tipo específico. Los valores de Límite de detección individuales (LoD) se calcularon para los 14 tipos de HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) como una función de una medida LoB y una medida de varianza poblacional (SD_s) de concentraciones múltiples del HPV diana específico (Directriz CLSI/NCCLS – EP17-A Vol. 24 N.º 34). Se utilizaron nueve muestras de ADN caracterizadas como negativas al HPV aisladas de las muestras cervicales para determinar el valor LoB (relación FAM FOZ = 1,20). Se analizó cada ADN plásmido de HPV a concentraciones de 7500, 5000, 2500 y 1250 copias por reacción, cada uno en un fondo de tres concentraciones de ADN genómico aislado de una estirpe celular negativa al HPV (10 ng, 100 ng y 1 μg por reacción). Se analizaron todas las muestras positivas y negativas en repeticiones de ocho.

El límite de detección para cada tipo de HPV se presenta en la tabla 8. Los límites se describen según la relación FAM FOZ y como un rango de número de copias.

Tabla 8: resumen de sensibilidad analítica de la prueba Cervista® HPV HR

Tipo de ADN del HPV	LoD (Número de copias/reacción)	LoD (Relación FAM FOZ)	SD_s
16	1250-2500	1,34	0,08
18	1250-2500	1,34	0,08
31	1250-2500	1,30	0,06
33	2500-5000	1,31	0,07
35	5000-7500	1,34	0,09
39	2500-5000	1,30	0,06
45	1250-2500	1,31	0,06
51	2500-5000	1,35	0,09
52	1250-2500	1,28	0,04
56	1250-2500	1,37	0,10
58	2500-5000	1,35	0,09
59	2500-5000	1,35	0,09
66	2500-5000	1,30	0,06
68	2500-5000	1,30	0,06
Media		**1,324**	**0,074**

Precisión y especificidad comparada con el método de PCR y secuenciación de ADN

Se realizó un estudio para evaluar la capacidad de la prueba Cervista® HPV HR para detectar ADN del HPV de alto riesgo de muestras clínicas. Las muestras se caracterizaron utilizando un método de determinación del genotipo del HPV de investigación que utilizaba una amplificación de PCR degenerada seguida por una secuenciación de tipo específico de HPV. El método de PCR/secuenciación se utilizó como único determinante para la presencia de ADN del HPV.

El estudio se realizó con 192 muestras almacenadas en la solución PreservCyt®, de las cuales 189 presentaron resultados de secuenciación claros. De estas 189 muestras, dos resultaron indeterminadas con la prueba Cervista® HPV HR. Los resultados indeterminados no se incluyeron en el análisis comparativo de la prueba Cervista® HPV HR y los métodos de PCR/secuenciación.

La proporción de los resultados negativos de PCR/secuenciación que fueron positivos con la prueba Cervista® HPV HR fue de 5/187. Por otro lado, la proporción de los resultados positivos de la PCR/secuenciación que fueron negativos según la prueba Cervista® HPV HR fue de 11/187 (véase la tabla 9).

Cuando se analizó de esta manera, se observó un acuerdo total del 91,4% (171/187; IC 95% = 86,5–95,0%) entre los métodos, con un acuerdo positivo y negativo del 89,8% y 93,7%, respectivamente (IC 95% = 82,5–94,8 y 85,8–97,9%).

Tabla 9: Detección del ADN de HPV de la prueba Cervista® HPV HR en comparación con la secuenciación específica de tipo

		PCR/Secuenciación		
		Negativo	**Positivo**	**Total**
Prueba Cervista® HPV HR	**Negativo**	74	11	85
	Positivo	5	97	102
	Total	79	108	187

Reproducibilidad

En este estudio de investigación, se evaluó la reproducibilidad total de la prueba Cervista® HPV HR en tres laboratorios utilizando un panel de células cultivadas positivas y negativas al HPV y muestras cervicouterinas positivas y negativas al HPV. Se extrajo ADN de 2 ml de muestra cervicouterina o células cultivadas suspendidas en la solución PreservCyt®. El ADN se extrajo usando el Genfind® DNA Extraction Kit. Se analizaron dieciséis muestras en tres ubicaciones durante cinco días no consecutivos en un período de tiempo de dos semanas. Para el estudio se usaron dos lotes de los kits Cervista® HPV HR y tres lotes de los Genfind® DNA Extraction Kits.

Se evaluó un acuerdo en el plazo de un día/laboratorio calculando el acuerdo porcentual entre rondas para los tres posibles apareamientos en el plazo de cada día/laboratorio. El acuerdo porcentual promedio y el intervalo de confianza del 95% exacto unilateral se presenta en primer lugar para cada laboratorio (reproducibilidad intralaboratorios), luego en los tres laboratorios (reproducibilidad entre laboratorios).

Se evaluó un acuerdo entre día/plazo de laboratorio calculando el acuerdo % entre rondas para cualquiera de las dos rondas realizadas durante dos días por separado en un laboratorio para todos los apareamientos posibles. El acuerdo porcentual promedio y el intervalo de confianza al 95% exacto unilateral se presenta en primer lugar para cada laboratorio (reproducibilidad intralaboratorios, entre rondas), luego en los tres laboratorios (reproducibilidad entre laboratorios, entre rondas).

Se evaluó un acuerdo entre laboratorios calculando el acuerdo porcentual entre rondas para cualquiera de las dos rondas realizadas por dos laboratorios diferentes para todos los posibles apareamientos [n = 3 (laboratorios 1 y 2, laboratorios 1 y 3, laboratorios 2 y 3)]. El acuerdo porcentual promedio y el intervalo de confianza al 95% unilateral se presentan en las tablas 10 y 11.

Tabla 10: Acuerdo porcentual (dentro del laboratorio) entre días del HPV HR Molecular Assay

Laboratorio	Número de comparaciones	Número de coincidencias	Porcentaje de coincidencia	Límite inferior de confianza del 95% de un solo lado
Laboratorio 1	200	200	100,0%	96,3%
Laboratorio 2	200	193	96,5%	90,8%
Laboratorio 3	200	200	100,0%	96,3%
En los 3 laboratorios	600	593	98,8%	96,9%

Tabla 11: acuerdo porcentual entre laboratorios del HPV HR Molecular Assay.

Laboratorios	Número de comparaciones	Número de coincidencias	Porcentaje de coincidencia	Límite inferior de confianza del 95% de un solo lado
Laboratorio 1 vs. Laboratorio 2	500	490	98,0%	96,6%
Laboratorio 1 vs. Laboratorio 3	500	500	100,0%	99,4%
Laboratorio 2 vs. Laboratorio 3	500	490	98,0%	96,6%
Todos los pares de laboratorios	1500	1480	98,7%	97,9%

Sustancias interferentes

Se analizaron cuatro muestras cervicouterinas (una negativa al HPV, tres positivas al HPV) y tres muestras de estirpe celular (una negativa al HPV, dos positivas al HPV) con sustancias agregadas que potencialmente podrían estar presentes en la muestra cervicouterina. Las sustancias que se agregaron a las muestras incluían la solución PreservCyt®, dos tipos de lavados vaginales, jalea anticonceptiva, dos tipos de cremas antimicóticas y muestras clínicas negativas que contenían visualmente sangre y mucosidad. La solución PreservCyt®, el lavado, la jalea anticonceptiva y las cremas antimicóticas se agregaron a dos niveles: 0,5% y 2%. Estos niveles se seleccionaron para representar situaciones extremas que podrían potencialmente ocurrir durante la recolección de muestras si la higiene del cuello uterino no se realizaba correctamente antes de obtener la muestra. El ADN se aisló de muestras puras y no puras usando el Genfind® DNA Extraction Kit y se analizaron con la prueba Cervista® HPV HR para evaluar la interferencia provocada por las sustancias introducidas.

La jalea anticonceptiva y las cremas antimicóticas que contenían clotrimazol o miconazol a una concentración en la muestra del 2% causaron resultados negativos falsos e indeterminados. Durante la extracción de ADN, la jalea anticonceptiva interfirió en la separación de perlas magnéticas en el tampón de trometamol 10 mM, causando una recuperación de ADN baja y una muestra insuficiente de ADN para el análisis. Esta interferencia fue visualmente detectable.

Los niveles de las sustancias anteriores que son necesarios para causar el fallo del ensayo son inusualmente altos y no se deben encontrar en muestras clínicas reales si el médico sigue el adecuado procedimiento de Papanicolaou de recolección de muestras por el que se debe higienizar el cuello uterino antes de obtener la muestra de células para el análisis de Papanicolaou.

La prueba Cervista® HPV HR también se probó con componentes que potencialmente pudieran haberse transferido sin querer durante la extracción de la muestra con el Genfind® DNA Extraction Kit. Se analizó el ADN que contenía tres niveles (0%, 5% y 10%), cada uno, de etanol al 70% o perlas magnéticas Genfind®, para evaluar la interferencia provocada por las sustancias introducidas. Se observó una interferencia cuando el 10% del volumen de la muestra de ADN contenía etanol al 70% o las perlas magnéticas.

Reactividad cruzada

Se analizó un panel de bacterias, hongos y virus que se encuentran habitualmente en el tracto anogenital femenino, así como también numerosos tipos de papilomavirus humano clonados de riesgo bajo o indeterminado con la prueba Cervista® HPV HR para evaluar una posible reactividad cruzada (consulte las tablas 12–14).

Tabla 12: los organismos enumerados a continuación se agregaron a la solución PreservCyt® a concentraciones de aproximadamente 1×10^5 ufc/ml y 1×10^7 ufc/ml. Se extrajo ADN de estos organismos y una línea celular negativa (Jurkat, 1×10^5 células/ml) utilizando el Genfind® DNA Extraction Kit. Todas las muestras dieron resultados negativos con la prueba Cervista® HPV HR.

Candida albicans	*Proteus vulgaris*
Corynebacterium pseudodiptheriticum	*Staphylococcus aureus*
Enterococcus faecalis	*Staphylococcus epideridis*
Escherichia coli	*Streptococcus mitis*
Lactobacillus acidophilus	*Streptococcus pyogenes*

.

Tabla 13: se analizó el ADN purificado obtenido de los organismos enumerados a continuación a concentraciones de 1×10^5 copias/reacción y 1×10^7 copias/reacción utilizando la prueba Cervista® HPV HR. Todas las muestras produjeron resultados negativos.

Virus Herpes simplex, tipo 1 (HSV-1)	*Chlamydia trachomatis*
Virus Herpes simplex, tipo 2 (HSV-2)	*Neisseria gonorrhoeae*
Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1, regiones pol y env)	*Neisseria meningitides*
	Mycoplasma hominis

Tabla 14: se analizaron muestras de ADN purificado clonado o amplicones PCR a concentraciones de 1×10^5 copias/reacción y 1×10^7 copias/reacción, a menos que se indicara lo contrario, utilizando la prueba Cervista® HPV HR. Todas las muestras produjeron resultados negativos.

Tipo de papilomavirus humano 1a	Tipo de papilomavirus humano 44
Tipo de papilomavirus humano 6	Tipo de papilomavirus humano 53
Tipo de papilomavirus humano 11	Tipo de papilomavirus humano 67*
Tipo de papilomavirus humano 42	Tipo de papilomavirus humano 70*
Tipo de papilomavirus humano 43	Gen de control interno humano

*Los tipos de papilomavirus humano 67 y 70 produjeron resultados positivos con la prueba Cervista® HPV HR con 1 x 10^5 y 1 x 10^7 copias/reacción. En una nueva valoración de estas muestras, se obtuvieron resultados negativos con la prueba Cervista® HPV HR con 1 x 10^3 copias/reacción y 1 x 10^4 copias/reacción, respectivamente.

Además, también se analizó el ADN extraído de un panel de doce muestras cervicouterinas que se almacenaron en la solución PreservCyt® y previamente se confirmó que contenían tipos de HPV de bajo riesgo (tipos 6, 42, 43, 44, 53 o 70) mediante PCR/secuenciación y produjo resultados negativos con la prueba Cervista® HPV HR.

Precisión

La repetibilidad y la precisión dentro del laboratorio de la prueba Cervista® HPV HR se demostró en un estudio de 21 días con tres operadores diferentes, realizando cada uno dos ciclos al día en grupos de equipos asignados individualmente. Cada ciclo estuvo formado por cuatro placas. Se usaron disposiciones de muestras en las placas diferentes para los ciclos de un día.

Cada ciclo incluyó muestras de ADN genómico aislado de líneas celulares positivas para HPV (SiHa – tipo 16 y HeLa – tipo 18), y una línea celular negativa para HPV (Jurkat) y muestras artificiales con ADN plasmídico de HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV66 o HPV68 y ADN de Jurkat. Las muestras se analizaron por duplicado con tres concentraciones.

Con 2500 copias/reacción, las muestras de ADN plasmídico produjeron un 57,4% (675/1176) de resultados positivos. Con 5000 copias/reacción, las muestras de ADN plasmídico produjeron un 97,2% (1143/1176) de resultados positivos. Con 10.000 copias/reacción, las muestras de ADN plasmídico produjeron un 100,0% (1176/1176) de resultados positivos (consulte la tabla 15).

Tabla 15: resumen de valores positivos y negativos para cada condición de muestra analizada.

Diana	Copias/reacción[a] o células/ml extraídas[b]	N	HPV Positivo n (%)	HPV Negativo n (%)
HPV 16	2500[a]	84	82 (98%)	2 (2%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 18	2500[a]	84	64 (76%)	20 (24%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 31	2500[a]	84	58 (69%)	26 (31%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)

Diana	Copias/reacción[a] o células/ml extraídas[b]	N	HPV Positivo n (%)	HPV Negativo n (%)
HPV 33	2500[a]	84	13 (15%)	71 (84%)
	5000[a]	84	81 (96%)	3 (4%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 35	2500[a]	84	1 (1%)	83 (99%)
	5000[a]	84	60 (71%)	24 (29%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 39	2500[a]	84	52 (62%)	32 (38%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 45	2500[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 51	2500[a]	84	77 (92%)	7 (8%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 52	2500[a]	84	21 (25%)	63 (75%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 56	2500[a]	84	64 (76%)	20 (24%)
	5000[a]	84	83 (99%)	1 (1%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 58	2500[a]	84	60 (71%)	24 (29%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 59	2500[a]	84	16 (19%)	68 (81%)
	5000[a]	84	79 (94%)	5 (6%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 66	2500[a]	84	40 (48%)	44 (52%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 68	2500[a]	84	43 (51%)	41 (49%)
	5000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000[a]	84	84 (100%)	0 (0%)
SiHa/Jurkat	2500 SiHa / 97.500 Jurkat[b]	84	0 (0%)	84 (100%)
	5000 SiHa / 95.000 Jurkat[b]	84	15 (18%)	69 (82%)
	20.000 SiHa / 80.000 Jurkat[b]	84	84 (100%)	0 (0%)
HeLa/Jurkat	1250 HeLa / 98.750 Jurkat[b]	84	65 (77%)	19 (23%)
	2500 HeLa / 97.500 Jurkat[b]	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000 HeLa / 90.000 Jurkat[b]	84	84 (100%)	0 (0%)
Jurkat	10.000[b]	84	2 (2%)	82 (98%)
	20.000[b]	84	0 (0%)	84 (100%)
	100.000[b]	84	0 (0%)	84 (100%)

Rendimiento de la prueba Cervista® HPV HR en muestras recogidas en SurePath™ Preservative Fluid en comparación con las muestras recogidas en PreservCyt® Solution

Un total de 418 pacientes participaron en un estudio de recogida conjunta para obtener muestras cervicales emparejadas, recogidas de cada paciente en SurePath™ Preservative Fluid y PreservCyt® Solution. Cada par de muestras fue analizado con la prueba Cervista® HPV HR. Se observó una coincidencia en porcentaje total del 92% para los resultados obtenidos para las muestras recogidas en SurePath™ Preservative Fluid, con respecto a los resultados obtenidos con las muestras recogidas en PreservCyt® Solution.

Tabla 16: Resumen de los resultados de Cervista® HPV HR con muestras cervicales recogidas conjuntamente en SurePath™ Preservative Fluid y PreservCyt® Solution

	Resultados de muestras en SurePath™	**Resultados de muestras en PreservCyt®**
Total	418	418
% positivas	29,4%	29,2%
% negativas	69,9%	70,6%
% indeterminadas	0,7%	0,2%

Referencias

1. Página web del National Cancer Institute: www.cancer.gov (2008).
2. Meijer CJ, Snijders PJ, and Castle PE. 2006. Clinical utility of HPV genotyping. Gynecol Oncol 103: 12-17.
3. Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D. 2007. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. Am J Obstet Gynecol 197(4): 346-55.
4. Sherman ME, Schiffman M, and Cox TJ. 2002. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). Jour Nat Can Inst 94(2): 102-107.
5. Davey DD, Neal MH, Wilbur DC, Colgan TJ, Styer PE, and Mody DR. 2004. Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the college of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. Arch Path Lab Med 128: 1224-1229.
6. Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. JAMA 2002; 287: 2120-2129.
7. Solomon D, Schiffman M, and Tarone R. 2001. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. Jour Nat Can Inst; 93(4): 293-299.
8. Mayrand MH, E Duarte-Franco, I Rodrigues, SD Walter, J Hanley. 2007. A Ferenczy, S Ratnam, F Coutlée, EL Franco. Human Papillomavirus DNA versus Papanicolau Screening Tests for Cervical Cancer. N Engl J Med 357(16): 1579-1588.
9. Wheeler CM, WC Hunt, M Schiffman, PE Castle. 2006. Human papillomavirus genotypes and the cumulative 2-Year risk of cervical cancer. J Infect Dis 194: 1291-1299.
10. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki A-B, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. CA Can Jour Clin 2002; 53: 342-362.
11. Wright TC Jr, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, Hatch K, Noller KL, Roach N, Runowicz C, Saslow D. 2004. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. Obstet Gynecol 103: 304-309.
12. Hall JG, Eis PS, Law SM, Reynaldo LP, Prudent JR, Marshall DJ, Allawi HT, Mast AL, Dahlberg JE, Kwiatkowski RW, de Arruda M, Neri BP, and Lyamichev VI. 2000. Sensitive detection of DNA polymorphisms by the serial invasive signal amplification reaction. PNAS 97(15): 8272-8277.

GUÍA DE RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS: PROCEDIMIENTO DE ENSAYO MANUAL PARA CERVISTA® HPV HR

Tabla 17: guía de resolución de problemas

Problema	Posible causa	Posible solución
Volumen insuficiente para las mezclas de reacción	La cantidad de muestras ingresadas en la ficha “Selección de análisis” del software es inferior a las muestras agregadas a la placa.	Recalcule manualmente la cantidad necesaria de la mezcla de reacción necesaria para completar la placa completa.
		Recree copias impresas de software utilizando la cantidad correcta de muestras.
	Volumen de mezcla de reacción excesivo agregado a una microplaca de 96 pocillos.	Verifique que los volúmenes correctos de reacción se agregaron a cada pocillo.
		Verifique que la información de calibración del equipo sea la actual.
El control negativo (No Target Control) presenta los siguientes resultados: • Aumentar ganancia para exploración 1 • Aumentar ganancia para exploración 2 • Aumentar ganancia para ambas exploraciones	Los ajustes de ganancia del lector de microplacas de fluorescencia son demasiado bajos, lo que provoca que los valores de señal fluorescente en bruto caigan por debajo del requisito mínimo.	Aumente el ajuste de ganancia del fluorímetro para la exploración designada para que el control negativo (No Target Control) produzca una señal mínima de 600 RFU y lea la placa nuevamente.

Se produce un error durante la importación de datos: “Revise el ajuste de la ganancia FAM y Red y vuelva a leer toda la placa. (No se permiten las lecturas de placas parciales)”. “Revise el ajuste de la ganancia FAM y vuelva a leer toda la placa. (No se permiten las lecturas de placas parciales)”. “Revise el ajuste de la ganancia Red y vuelva a leer toda la placa. (No se permiten las lecturas de placas parciales)”.	Problemas del fluorímetro	Consulte la Guía de resolución de problemas del Invader Call Reporter® Software User Manual, para asuntos relacionados con el fluorímetro que puedan contribuir a este error.
	El período de incubación fue más largo que el período recomendado.	Confirme que la incubación se realizó durante el período de tiempo especificado y a la temperatura especificada.
El control negativo (No Target Control) presenta los siguientes resultados: % CV alto (NTC del HPV) % CV alto (NTC del ADN genómico)	Mezcla insuficiente o no homogénea de reactivos.	• Asegúrese que todas las muestras, reactivos y mezclas de reacción se mezclen completamente. • Cuando agregue la mezcla de reacción a cada pocillo, coloque las puntas en la parte inferior del pocillo (por debajo del aceite mineral) y transfiera lentamente hacia arriba y hacia debajo de 3 a 4 veces. • Verifique que se expulse todo el líquido de la punta de la pipeta durante las adiciones. • Verifique que se agregó el reactivo correcto a cada pocillo. • Verifique que se agregasen los volúmenes correctos de reactivos a cada pocillo. • Verifique que la información de calibración del equipo sea la actual. • Realice una inspección visual para buscar volúmenes homogéneos entre los pocillos.
	Preparación incorrecta de mezclas de reacción.	
	Adición no homogénea del control negativo (No Target Control) o mezcla de reacción a la microplaca	

	Sospecha de contaminación durante la preparación de adición de muestras o mezcla de reacción	• Utilice puntas con barreras de aerosol sin nucleasas y tubos estériles cuando realice las mezclas de reacción. • Utilice guantes cuando prepare la prueba. • Asegúrese de que las puntas de pipeta sólo tocan la solución que se esté dispensando. • No toque las puntas de las pipetas con las manos. • Limpie las superficies del laboratorio utilizando los materiales apropiados.
	Evaporación de la muestra	Verifique la adición de aceite mineral a cada pocillo.
	Burbujas en los pocillos de la placa de reacción	En caso de ser posible, centrifugue las placas antes de la exploración de fluorescencia.
	Las mezclas de reacción preparadas no se usaron en el período de tiempo recomendado.	Use mezclas de reacción antes de 30 minutos de haberlas preparado.
El control presenta un resultado de “Control no válido”	Mezcla insuficiente o no homogénea de controles	• Asegúrese de que todos los controles y reactivos se mezclen completamente y de forma homogénea. • Cuando agregue la mezcla de reacción a cada pocillo, coloque las puntas en la parte inferior del pocillo (por debajo del aceite mineral) y transfiera lentamente hacia arriba y hacia abajo de 3 a 4 veces. • Asegúrese de que se expulse todo el líquido de la punta de la pipeta durante las adiciones. • Verifique que se agregó el control correcto a cada pocillo. • Verifique que se agregó el volumen de control correcto a cada pocillo. • Verifique la información de calibración del equipo. • Realice una inspección visual para buscar volúmenes homogéneos entre los pocillos.
	Adición no homogénea de la mezcla de reacción.	
	Adición de control insuficiente o no homogénea.	
	No se agregó el control correcto a la placa o no se agregó a la posición correcta de la placa.	Verifique que los controles correctos se agregaron a las posiciones correctas de las placas.
	El período de incubación fue más corto o más largo que el período de tiempo recomendado.	Confirme que la incubación se realizó durante el período de tiempo especificado y a la temperatura especificada.

	Sospecha de contaminación durante la adición de muestras	Utilice puntas con filtro de aerosol sin nucleasas y tubos estériles durante la instalación.
		Utilice guantes cuando prepare la prueba.
		Asegúrese de que las puntas de pipeta sólo tocan la solución que se esté dispensando.
		No toque las puntas de las pipetas con las manos.
		Limpie las superficies del laboratorio utilizando los materiales apropiados.
	Evaporación de la muestra	Verifique la adición de aceite mineral a cada pocillo.
	Orientación de la placa incorrecta	Cuando explore la placa, oriéntela para que el pocillo A-1 esté en la esquina superior izquierda.
	Burbujas en los pocillos de la placa de reacción	En caso de ser posible, centrifugue las placas antes de la exploración de fluorescencia.
	Las mezclas de reacción preparadas no se usaron en el período de tiempo recomendado.	Use mezclas de reacción antes de 30 minutos de haberlas preparado.
La muestra presenta el resultado “IND: % CV alto”.	Mezcla insuficiente o no homogénea de muestras	• Asegúrese de que todas las muestras y reactivos se mezclen completamente. • Cuando agregue la mezcla de reacción a cada pocillo, coloque las puntas en la parte inferior del pocillo (por debajo del aceite mineral) y transfiera lentamente hacia arriba y hacia abajo de 3 a 4 veces. • Verifique que se expulse todo el líquido de la punta de la pipeta durante las adiciones. • Verifique que se agregó la muestra correcta a cada pocillo. • Verifique que se agregó el volumen correcto a cada pocillo. • Verifique que la información de calibración del equipo sea la actual. • Realice una inspección visual para buscar volúmenes homogéneos entre los pocillos.
	Adición no homogénea de mezcla de reacción.	
	Adición no homogénea de la muestra.	
	Sospecha de contaminación durante la adición de muestras	Utilice puntas con filtro de aerosol sin nucleasas y tubos estériles durante la instalación.
		Utilice guantes cuando prepare la prueba.
		Asegúrese de que las puntas de pipeta sólo tocan la solución que se esté dispensando.
		No toque las puntas de las pipetas con las manos.
		Limpie las superficies del laboratorio utilizando los materiales apropiados.

	Evaporación de la muestra	Verifique la adición de aceite mineral a cada pocillo.
	Burbujas en los pocillos de reacción	En caso de ser posible, centrifugue las placas antes de la exploración de fluorescencia.
	Las mezclas de reacción preparadas no se usaron en el período de tiempo recomendado.	Use mezclas de reacción antes de 30 minutos de haberlas preparado.
La muestra presenta el resultado “IND: ADN genómico bajo”.	Cantidad insuficiente de células en la muestra	• Mezcle la muestra y repita la extracción de ADN. • Verifique que se agregó el volumen correcto a cada pocillo. • Verifique que se ha seguido el protocolo adecuado para la extracción del ADN.
	Sospecha de error durante la extracción de ADN	
	Se utilizó una cantidad insuficiente de ADN en el ensayo.	
	Inhibición de la muestra de ADN	Repita la extracción de ADN de la muestra.
		Consulte las instrucciones de uso, sección Características de funcionamiento (sustancias interferentes).
	Es posible que la muestra de ADN no haya estado completamente desnaturalizada.	Verifique que la muestra se desnaturalizase a la temperatura correcta y durante una cantidad de tiempo apropiada.
La muestra presenta el resultado “IND: HPV Foz bajo”.	Sospecha de error durante la extracción de ADN	• Repita la extracción de ADN de la muestra. • Verifique que se ha seguido el protocolo adecuado para la extracción del ADN. • Consulte las instrucciones de uso, sección Características de funcionamiento (sustancias interferentes).
	Inhibición de la muestra de ADN	
Volumen de ADN de muestra insuficiente	Volumen de elución insuficiente durante la extracción del ADN.	Repita la extracción de ADN de la muestra.
		Verifique que se ha seguido el protocolo adecuado para la extracción del ADN.
Un número alto de muestras de ADN con valores FOZ del FAM positivos en las tres mezclas de reacción	Sospecha de error durante la extracción de ADN Sospecha de contaminación del reactivo de extracción del ADN	• Repita la extracción de ADN de la muestra. • Verifique que se ha seguido el protocolo adecuado para la extracción del ADN.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS PARA EL SISTEMA CERVISTA® MTA

Consulte la sección de Resolución de problemas del Manual del usuario de Cervista® MTA (referencia: MAN-02378-002) para sistemas Cervista® MTA.

Información de contacto:



Fabricante:
Hologic, Inc.
502 S. Rosa Road,
Madison, WI, 53719 EE.UU.
Teléfono: 608.273.8933
Página web: www.hologic.com

Asistencia técnica:
Su representante local le informará de las vías de acceso a soporte técnico desde fuera de los EE.UU.

Distribuidores:
Póngase en contacto con Hologic para obtener una lista de los distribuidores en todo el mundo.
Teléfono: 608.273.8933
Página web: www.hologic.com



Representante autorizado para la Comunidad Europea:
Hologic UK Ltd.
Link 10, Napier Way
Crawley, West Sussex
RH10 9RA Reino Unido
+44 (0) 1293 522 080

NOTA PARA LOS DESTINATARIOS SOBRE LA LICENCIA LIMITADA

La recepción de un producto de Hologic, o de su distribuidor autorizado, incluye una licencia limitada, no exclusiva e instransferible protegida por algunos derechos de propiedad intelectual de Hologic. Esta licencia solo permite el uso del producto en los métodos para los que está destinado. La licencia limitada no incluye ninguna licencia para el uso del producto en la investigación o el desarrollo de nuevos productos, la fabricación de productos o su retroingeniería, mejoras de la tecnología de este producto ni otros propósitos comerciales. El cliente no está autorizado a transferir este producto a ningún tercero para ninguna finalidad sin el consentimiento expreso por escrito de Hologic. A no ser que se indique otra cosa en este párrafo, no se concede ninguna otra licencia de manera explícita, implícita o por exclusión.

Para más información sobre la disponibilidad de licencias adicionales para practicar las metodologías patentadas, póngase en contacto con:

Legal Department, Hologic, Inc., 502 South Rosa Rd., Madison, WI, 53719, (608) 273-8933.

La prueba Cervista® HPV HR emplea una química Invader® patentada y componentes específicos protegidos por: Los números de patente de los EE.UU.: 5,614,402, 5,795,763, 5,846,717, 5,985,557, 5,994,069, 6,001,567, 6,090,543, 6,090,606, 6,348,314, 6,458,535, 6,555,357, 6,562,611, 6,635,463, 6,673,616, 6,759,226, 6,872,816, 6,875,572, 6,913,881, 7,060,436, 7,067,643, y 7,087,381; números de patente en Canadá: 2,163,015 y 2,203,627; números de patente en Australia: 694,736, 731,062, 737,449, 738,849, 744,369, 779,443 y 781,188; número de patente en Japón: 3,665,648; número de patente en Europa: 711,361. Todas las patentes de los Estados Unidos y las patentes extranjeras (donde sea aplicable) que puedan haberse expedido o que se puedan expedir en el futuro con respecto a dichas solicitudes de patentes; y todas las solicitudes de patentes en EE.UU. y en el extranjero y expedición de patentes correspondientes (donde sea aplicable) cuyo objeto en su totalidad o en parte tengan derecho al beneficio de las fechas de depósito de cualquiera de las patentes o solicitudes de patentes anteriores que se enumeren en la documentación de este producto.

GARANTÍA LIMITADA DEL PRODUCTO

GARANTÍAS. Se otorga la garantía del equipo, de los suministros y del software al cliente original para que actúe sustancialmente según las especificaciones publicadas del producto durante un (1) año desde la fecha de instalación (si fuera aplicable) o desde la fecha de entrega, si esta fuera anterior. Las opciones y accesorios postventa tienen una garantía de seis (6) meses, y la garantía de los tubos de rayos x se corresponderá con el prorrateo lineal indicado en la especificación del producto aplicable (“Periodo de garantía”). Las piezas de recambio están garantizadas durante el periodo que reste de la garantía o noventa (90) días desde la entrega, si este plazo fuera mayor. Los materiales consumibles están cubiertos con la garantía indicada en las especificaciones publicadas durante un periodo que finaliza con la fecha de caducidad que figura en sus respectivos envases. La garantía cubre la mano de obra necesaria para restablecer los servicios. Hologic no garantiza que el uso de los productos no se interrumpa o no tenga errores ni que los productos funcionen con productos autorizados de otras casas. TODA LA RESPONSABILIDAD DE HOLOGIC SE LIMITA EXPRESAMENTE A REPARAR O SUSTITUIR LOS PRODUCTOS (SEGÚN CONVENGA HOLOGIC Y DE LA FORMA DESPACHADA ORIGINALMENTE) O CORREGIR EL SERVICIO QUE HAYA SUSCITADO ALGUNA RECLAMACIÓN, O A ELECCIÓN DE HOLOGIC, LA DEVOLUCIÓN O ABONO AL CLIENTE POR UN IMPORTE IGUAL AL PRECIO, HONORARIO O CARGO DE HOLOGIC. LAS GARANTÍAS MENCIONADAS ANTERIORMENTE SUSTITUYEN Y EXCLUYEN CUALQUIER OTRA GARANTÍA QUE NO ESTÉ INDICADA AQUÍ EXPRESAMENTE, YA SEA EXPRESA O ÍMPLICITA CONFORME A DERECHO U OTRO TIPO, INCLUIDAS, AUNQUE NO EXCLUSIVAMENTE, CUALQUIER GARANTÍA IMPLÍCITA DE COMERCIABILIDAD O CONFORMIDAD CON UN FIN DETERMINADO. ESTA GARANTÍA LIMITADA SE CONCEDE ÚNICAMENTE AL CLIENTE ORIGINAL SIN QUE SE OTORGUE NI PUEDA SER VÁLIDA PARA UN TERCERO, INCLUIDOS, SIN SALVEDADES, LOS CLIENTES DEL CLIENTE. LA PRESENTE GARANTÍA SE CONSIDERARÁ NULA SI EL CLIENTE TRANSFIERE EL PRODUCTO A CUALQUIER ENTIDAD QUE POSEA MENOS DEL CINCUENTA (50) POR CIENTO DE LA TITULARIDAD DEL PRODUCTO. ALGUNOS ESTADOS NO PERMITEN LA EXCLUSIÓN DE GARANTÍAS IMPLÍCITAS, POR LO QUE NO SE LE PUEDEN APLICAR LAS EXCLUSIONES MENCIONADAS ANTERIORMENTE. ASIMISMO, PUEDE QUE TENGA OTROS DERECHOS QUE VARÍEN DE UN ESTADO A OTRO. Estas garantías no se aplicarán a ningún elemento que haya sido: (a) reparado, desplazado o alterado por otra persona que no sea el personal de asistencia autorizado por Hologic; (b) sometido a un abuso, estrés o mal uso físico (incluidos térmico o eléctrico); (c) almacenado, mantenido u operado de cualquier manera distinta a lo aconsejado por las especificaciones o instrucciones aplicables de Hologic; o (d) suministrado con otra garantía distinta a la de Hologic o como una versión previa a su lanzamiento o “tal como está”.

RECLAMACIONES Y RESARCIMIENTOS DE LA GARANTÍA. En caso de cualquier reclamación de la garantía, Hologic sustituirá con elementos nuevos o reparados cualquier pieza del equipo, componente o suministro consumible que estén cubiertos por la garantía y se esforzará el máximo posible para restablecer o proporcionar una solución temporal ante cualquier defecto o error detectado del software que impida trabajar en conformidad sustancial con las especificaciones de funcionamiento. Alternativamente, Hologic podrá elegir entre reparar o abonar al cliente una cantidad igual al precio de compra del equipo, componente, software, suministro consumible o servicio defectuoso. Los elementos sustituidos pasarán a ser propiedad de Hologic. Todas las reclamaciones deberán iniciarse poniéndose en contacto con Hologic dentro del periodo de garantía aplicable y treinta (30) días después de descubrir la rotura o disconformidad. Se deberá dar acceso razonable y una oportunidad a Hologic para que inspeccione todos los materiales relacionados. Si tanto Hologic como el cliente fueran incapaces de resolver cualquier reclamación y el cliente no lo hubiera notificado en el plazo de un (1) año desde que surgiera la reclamación, el cliente no podrá iniciar acciones legales posteriores. Se entenderá que estos resarcimientos comprenden toda la responsabilidad por parte de Hologic y el resarcimiento exclusivo del cliente por incumplimiento de garantía y sustituyen a cualquier otro resarcimiento por derecho o equidad.

LÍMITE DE RESPONSABILIDAD. HOLOGIC NO SE RESPONSABILIZARÁ DE NINGUNA PÉRDIDA, DAÑO O GASTO (INCLUIDOS AUNQUE NO EXCLUSIVAMENTE PÉRDIDA DE BENEFICIOS, DATOS O USO) ESPECIAL, ACCIDENTAL, PUNITIVO, EJEMPLAR O RESULTANTE, QUE SURJA DIRECTA O INDIRECTAMENTE DE LA VENTA, MANIPULACIÓN SERVICIO O USO DEL PRODUCTO PEDIDO O SUMINISTADO NI DE NINGUNA CAUSA RELACIONADA CON EL MISMO A NO SER QUE LAS PARTES ASÍ LO ACUERDEN EXPRESAMENTE POR ESCRITO. CON LA EXCEPCIÓN DE DAÑOS PERSONALES O MUERTE CAUSADOS POR ACTOS U OMISIONES NEGLIGENTES O INTENCIONADOS POR ERROR POR PARTE DE HOLOGIC, EN NINGÚN CASO SE CONSIDERARÁ A HOLOGIC REPONSABLE BAJO NINGUNA TEORIA LEGAL O POR CUALQUIER OTRA CAUSA, YA SEA EN BASE A LA GARANTÍA, CONTRATO, PROCEDIMIENTO FRAUDULENTO, NEGLIGENCIA O CUALQUIER OTRA TEORIA, INCLUSO EN EL CASO DE SER ADVERTIDO DE ESTA POSIBILIDAD, DE NINGUNA CANTIDAD QUE EXCEDA EL PRECIO, HONORARIO O CARGO QUE PERCIBA HOLOGIC POR EL MISMO.

Hologic®, Cervista®, Cleavase®, Invader®, Invader Call Reporter®, PreservCyt®, y ThinPrep® son marcas comerciales registradas de Hologic Inc. El resto de marcas comerciales y marcas comerciales registradas mencionadas en este manual de usuario son propiedad de sus respectivas empresas.

Algunos componentes del análisis de ácidos nucleicos, por ejemplo, composiciones y métodos para manipular o visualizar ácidos nucleicos para el análisis, pueden incluirse en una o más patentes que otras partes poseen. Igualmente, podrían estar patentados los ácidos nucleicos que contienen secuencias de nucleótidos específicas. La fabricación, uso o venta de estos componentes o ácidos nucleicos puede requerir una o más licencias. No se debe interpretar nada en este documento como una autorización o licencia implícita para realizar, usar o vender ninguno de los componentes o ácidos nucleicos incluidos en alguna de estas patentes.

Número de catálogo 15-3053-301, Revisión 103

